

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

TITULO

“CARACTERIZACIÓN POR TAMAÑO DE PARTICULAS DE HECES DE EQUINOS Y
SU RELACION CON LA CALIDAD NUTRICIONAL DEL FORRAJE DE LA DIETA”

ALUMNO

Ing. Zoot. Ariel G. Pellegrini
Cátedra de Equinotecnia, FCA, UNLZ

DIRECTORES

MV Marcos Muriel (PhD), FCV, UNLP
Ing. Zoot. Sergio Paz (MSc), FCA, UNLZ

LA PLATA – OCTUBRE 2018



INDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
Hipótesis y Objetivos	4
MATERIALES Y MÉTODOS	5
Reclutamiento de animales y toma de muestras	5
Análisis de calidad nutricional de las dietas	6
Evaluación del tamaño de partículas de las heces	7
Análisis de Datos y Estadística	8
RESULTADOS	9
Valoración nutricional de las dietas	9
Composición de las heces – tamaño de partículas	10
Composición de las heces – materia seca	12
Relación entre tamaño de partículas en heces frescas y tipo de dieta	13
Relación de la materia seca en heces con tamaño de partículas en heces y calidad de la dieta	15
Relación entre tamaño de partículas en heces frescas y calidad de la dieta	16
DISCUSIÓN	16
Tamaño de partículas en heces de equinos	16
Relación de las heces con la calidad de la dieta	17
CONCLUSIÓN	20
BIBLIOGRAFÍA	21
ANEXOS	23

RESUMEN

Argentina es uno de los países con más existencias de caballos en el mundo, con un modelo de producción tradicionalmente pastoril. Los equinos son herbívoros no-rumiantes, de esta manera el conocimiento de la composición y calidad de los forrajes que pastorean, resultan primordiales para la valoración de su nutrición. En la producción y salud de los caballos, la nutrición juega un papel crítico. Por esta razón, nos propusimos evaluar los parámetros físicos de las heces frescas de equinos pastoreando a fin de relacionarlo con la calidad de los distintos forrajes que consumían. Para ello, utilizamos el instrumento comercial Nasco Digestion Analyzer donde al lavar las muestras de heces frescas, pasan por una estructura de 3 tamices de acero inoxidable que disminuyen el diámetro de poro desde el superior hacia el inferior separando así las partículas por tamaño (denominamos con letras cada estrato o tamiz): A: > 4,8 mm; B: 4,8-3,2 mm; C: 3,2-1,6 mm y D: < 1,6 mm siendo la proporción que escapó a los tres estratos durante el lavado. A fin de estudiar la relación Heces/Forrajes para los parámetros evaluados en cada caso, se trabajó con 31 yeguas adultas de raza Sangre Pura de Carrera (6– 12 años de edad) para 4 tratamientos o tipos de Dieta: 1. Dieta Pp (n:9) pastura consociada; 2. Dieta Ss (n:8) verdeos de soja; 3. Dieta Mn (n:7) verdeo de maíz y 4. Dieta Aa (n:7) verdeos de avena. Las muestras de forrajes fueron analizadas para materia seca (MSf), digestibilidad in vitro (DIG), fibra en detergente neutro (FDN) y fibra en detergente ácido (FDA). Nuestros resultados evidencian que las proporciones acumuladas por tamaño de partículas del material de heces frescas, son diferentes según el tipo de dieta. Partículas de tamaño mayor a 4,8 mm (A) y menor a 1,6 mm (D) son más relevantes en tal distinción. Los estratos B y C fueron siempre minoritarios para los forrajes evaluados. En nuestro estudio, hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las dietas para tamaño de partículas mayor a 4,8 mm, siendo los valores para cada dieta: Pp: 47%, Ss: 27%, Mn: 13% y Aa: 2%. Los niveles de relación medidos a través del análisis de correlación de Pearson entre las variables de calidad del forraje (DIG, FDN y FDA) y el tamaño de partículas de las heces (Estratos A, B, C y D) fueron moderados. Posiblemente hagan falta un mayor número de evaluaciones de la interacción forraje/heces con este método para poder definir un modelo descriptivo al respecto.

INTRODUCCIÓN

Argentina, con más de dos millones de equinos (Fuente: http://www.minagri.gob.ar/sitio/areas/equinos/informacion_estadistica), es uno de los países con más existencias en el mundo (Fuente: <http://www.fao.org/faostat>; <https://www.horsemart.co.uk/news/which-countries-have-the-most-horses>). Nuestro modelo de producción tradicionalmente pastoril representa una importante ventaja competitiva a nivel mundial, tanto por sus reducidos costos como por un manejo semi-extensivo valorado en el mercado (Paz y Pellegrini, 2008).

En la producción y salud de los caballos, la nutrición juega un papel crítico (NRC, 2007). La calidad de la dieta ha sido identificada como un regulador clave de la situación nutricional, condición corporal, tasa de supervivencia, éxito reproductivo y en última instancia, de la dinámica de poblaciones de herbívoros mamíferos (Gil-Jiménez et al., 2015). Desde el punto de vista estrictamente alimenticio, los equinos son herbívoros no-rumiantes (INRA, 2015), de esta manera el conocimiento de la composición y calidad de los forrajes que pastorean, resultan primordiales para la valoración de su nutrición (Cymbaluk, 1990).

Las múltiples pasturas y verdeos implantados que componen la cadena forrajera sufren variaciones en cuanto a su contenido de nutrientes a lo largo del año debido básicamente a las condiciones edafo-climáticas y a sus respectivos avances en la madurez fenológica (Cangiano, 1997; Darlington and Hershberger, 1968). Resulta prácticamente imposible disponer de los parámetros de calidad por composición química de los forrajes pastoreados en cada momento.

Asimismo, otra de las mediciones relevantes que expresan claramente la interacción alimento/animal, es la digestibilidad. La misma se determina como el porcentaje de un alimento o de uno de sus constituyentes absorbido en el tubo digestivo en el curso de la digestión (Martin Rosset, 1993), y por lo tanto, varía con la naturaleza y composición química de los alimentos (Pagan, 1998). Coincidiendo con lo que expresa Sales, et al. (2013), los métodos de análisis de la digestibilidad in vivo tienden a necesitar muchas horas de consumo, mucha mano de obra, con costos muy altos, y resultan impracticables.

El trabajo de Mésochina et al. (1998) fue uno de los primeros antecedentes en tratar de predecir la digestibilidad de la dieta a través de índices de evaluación en heces. Asimismo, el estudio de la calidad nutricional a través de distintos parámetros en las heces es motivo de recientes investigaciones en muchas otras especies de animales de producción y compañía, tales como, en perros (Brambillasca et al., 2010),

conejos (Gil-Jiménez E et al., 2015), cerdos (Bastianelli et al., 2015) y bovinos (Tolleson and Schafer, 2014).

Hutjens (2010) observa los cambios en heces frescas para ganado lechero como una guía clave a considerar por el nutricionista en la evaluación de la alimentación, utilizando el instrumento comercial Nasco Digestion Analyzer donde los mismos operarios y profesionales lo pueden usar in situ en los establecimientos sin necesidad de recurrir al envío de muestras y análisis de laboratorio. De esta manera, proponemos usar esta misma técnica, de bajo costo y fácil práctica, como método complementario para la valoración nutricional de la calidad del forraje ofrecido y su real utilización por parte de los equinos.

Hipótesis

La proporción de los distintos tamaños de partículas en las heces frescas establecen un método práctico y económico para interpretar los parámetros de calidad nutricional del forraje pastoreado por los equinos.

Objetivo General

Evaluar la proporción de los distintos tamaños de partículas en las heces frescas de equinos a fin de relacionarlo con FDN, FDA y Digestibilidad in vitro de los distintos forrajes disponibles para su consumo.

Objetivos Específicos

Implementar el uso del instrumento tamiz Nasco Digestion Analyzer para caracterizar las heces de los equinos a través de la medición del tamaño de partículas.

Estudiar la relación de los pares Heces/Forrajes entre las dietas, para las proporciones de tamaño de partículas en las heces frescas y los parámetros de calidad nutricional de los forrajes (FDN, FDA y Digestibilidad in vitro).

MATERIALES Y MÉTODOS

Reclutamiento de animales y toma de muestras

Se trabajó con 31 yeguas adultas de raza Sangre Pura de Carrera (de rango etario entre 6– 12 años de edad), todas en óptimo estado de salud de acuerdo a lo establecido por el médico veterinario y con condición corporal entre 5 a 7 puntos en la escala de 1 a 9 según Henneke et al. (1983).

Los animales formaban parte de los planteles de tres haras ubicados en la localidad de San Antonio de Areco, Provincia de Buenos Aires. Se eligió esta zona, perteneciente a la región Pampeana, dado que la misma se establece como una de las de mayor incidencia en la industria hípica nacional.

Para la realización de este trabajo se tomaron muestras de heces frescas (n:31) en yeguas que estaban pastoreando cada tipo de forraje por más de 14 días, asegurando así por un lado, un período de adaptación adecuado y por el otro, superar el tiempo de retención máximo de la digesta en el tracto gastrointestinal (TGI) en los equinos (Van Weyenberg et al., 2006) para asegurar que el material encontrado en las heces tendrá relación directa con el consumido.

Las heces frescas fueron tomadas directamente desde recto o del suelo inmediatamente post defecación asegurando que no haya contaminación con tierra u otros restos. Las mismas fueron guardadas en bolsas individuales y rotuladas con fecha, registro particular y establecimiento. Fueron conservadas en heladera hasta su procesamiento para evitar pérdida de agua.

Se clasificaron los tipos de Dietas (tratamientos) en función a los distintos forrajes pastoreados con su respectiva característica botánica y de estacionalidad de producción, logrando así armar grupos funcionales diferentes (Forraje:Heces) por cada lote evaluado. Quedando así 4 tratamientos o tipos de Dieta como se expresa en la siguiente tabla:

Dieta	n	Período	Descripción
Dieta Pp	9	Primavera 2016	pastura a base de rye grass (<i>Lolium Multiflorum</i>), trébol blanco (<i>Trifolium repens</i>) y cebadilla criolla (<i>Bromus unioloides</i>).
Dieta Ss	8	Verano 2017	verdeo de soja (<i>Glycine max</i>) en estado fenológico R5.
Dieta Mn	7	Verano 2017	verdeo de maíz (<i>Zea mayz</i>) en estado fenológico R2 – R4.
Dieta Aa	7	Invierno 2017	verdeo de Avena (<i>Avena sativa</i>) en estado vegetativo temprano.

Análisis de calidad nutricional de las dietas

Se tomaron muestras representativas de cada forraje desde los respectivos potreros dónde pastorean los animales. Los lotes estaban parejos en disponibilidad y estado fenológico, con lo cual se dispuso la extracción de 5 sub-muestras en forma aleatoria para hacer cada muestra. La altura de corte fue realizada de acuerdo al patrón de consumo de los animales en cada caso. Las muestras de forraje fueron guardadas en bolsas de nylon rotuladas con identificación de la especie/mezcla forrajera, fecha y establecimiento. Fueron preservadas en heladera hasta su procesamiento.

Para la valoración de la calidad nutricional de los forrajes se analizaron en el Laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ., los parámetros: materia seca (MSf), digestibilidad in vitro (DIG), fibra en detergente neutro (FDN) y fibra en detergente ácido (FDA).

Para determinación de MSf las muestras fueron secadas en estufa a 70°C hasta peso constante. El %MSf fue definido como la diferencia en porcentaje entre el peso inicial y el peso final: $\%MSf = (P_{inicial} - P_{final}) \times 100$.

El análisis de DIG se efectuó por medio del sistema ANKOM (Daisy II, ANKOM Corp., Fairport, NY, EEUU). Las muestras secas fueron molidas a 1mm, colocándose 0,25 gr de material en bolsas ANKOM identificadas individualmente. Se registró peso de bolsa y peso total para posteriormente ser llevadas a digestión en solución de pepsina con ácido clorhídrico (HCl) 0,1N a 40°C por 24hs. Luego las muestras fueron lavadas con agua destilada a punto de ebullición hasta pH neutro y posteriormente fueron colocadas en solución de celulasa por 30hs a 40°C. Finalmente, las muestras fueron lavadas nuevamente con agua destilada en punto de ebullición hasta pH neutro y fueron secadas en estufa hasta peso constante, registrándose dicho peso. De esta manera, el valor DIG fue calculado como $\%DIG = (1 - ((p_{final} - p_{bolsa})/p_{muestra\ inicial}) \times 100$, donde p_{final} representa el peso final de la muestra analizada (incluyendo la bolsa), p_{bolsa} representa al peso de las bolsas ANKOM y $p_{muestra\ inicial}$ representa el peso de la muestra previo al análisis contenido en cada bolsa.

Para la determinación de FDN y FDA fueron colocados 0,50 gr de material seco y molido a 1mm en bolsas ANKOM identificadas individualmente. Se registró peso de bolsa y peso total. Las bolsas fueron colocadas en los frascos del digestor Daysi II. Los mismos fueron llenados con 2000 ml de detergente neutro y detergente ácido, correspondientemente, a temperatura ambiente. Las muestras fueron dejadas en el medio por 60 minutos. Posteriormente fueron lavadas con agua destilada en punto de ebullición tres veces. Seguidamente las bolsas fueron escurridas y colocadas en

acetona industrial por 3 minutos. Luego las muestras fueron escurridas y secadas al aire libre para evaporar la acetona y finalmente colocadas en estufa a 105°C por 4 hs y se registró su peso final. Las determinaciones de FDN y FDA fueron realizadas de acuerdo a los métodos descritos por Goering y Van Soest (1970), modificadas por Van Soest y Robertson (1980) y adaptados en el Laboratorio NIRS. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora. FDA y FDN fueron calculados como $\%FDA = ((p_{final} - p_{bolsa})/p_{muestra\ inicial}) \times 100$ y $\%FDN = ((p_{final} - p_{bolsa})/p_{muestra\ inicial}) \times 100$; dónde p_{final} representa el peso final de la muestra analizada (incluyendo la bolsa), p_{bolsa} representa al peso de las bolsas ANKOM y $p_{muestra\ inicial}$ representa el peso de la muestra previo al análisis contenido en cada bolsa.

Evaluación del tamaño de partículas de las heces

Las muestras de heces frescas fueron evaluadas a través del uso del instrumento comercial Nasco Digestion Analyzer (www.enasco.com) para la determinación de tamaño de partículas.



Imagen 1. a: Equipo comercial Nasco Digestion Analyzer completo con todos los utensilios; b: se muestra con mayor detalle la bandeja donde queda el material retenido y c: tamiz de acero cada uno con su respectivo tamaño de poro.

El mismo consiste en una estructura que sostiene 3 tamices de acero inoxidable que disminuyen el diámetro de poro desde el superior hacia el inferior (denominamos con letras cada estrato o tamiz): **(A)**, **(B)** y **(C)**, respectivamente. Se consideró como variable residuo **(D)** a la proporción que escapó a los tres estratos.

Estrato o Tamiz	A	B	C	D
Rango de tamaño de partícula en mm	>4,8	4,8 – 3,2	3,2-1,6	<1,6



Imagen 2. Estructura que sostiene las tres bandejas, cada una con un tamiz de distinto tamaño de poro.

Para esta determinación las muestras de heces frescas en rango de 110gr – 160gr que fueron sometidas a lavado con aspersor durante 4 minutos. Se registró el peso para las fracciones retenidas en cada estrato, para luego calcular la proporción relativa de cada uno de ellos. Se determinó el valor promedio de cada estrato para cada dieta.

Para la evaluación de MSh se tomaron muestras en rango de 120 – 170 gr que fueron secadas en estufa a 70°C hasta peso constante y posteriormente molidas a 1mm en las instalaciones del Laboratorio Central de Química de Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (FCA – UNLZ). El %MSh fue definido como la diferencia, en porcentaje, entre el peso inicial y el peso final: $\%MSh = (P_{inicial} - P_{final}) \times 100$.

Por último, y solo a modo descriptivo no analítico, también realizamos un análisis por la metodología NIRS (espectroscopia del infrarrojo cercano) de cada muestra de heces, a fin de visualizar su nivel de homogeneidad dentro de cada grupo (por tipo de dieta). Las muestras secas y molidas en molino a tamaño de partícula de 1 mm, fueron analizadas usando un equipo FOSS NIRS 6500 (NIRSystem Inc., Silver Spring, MD), con rango de longitud de onda entre 1100 a 2500 nm (cada 2nm).

Análisis de datos y estadística

El procesamiento y análisis de datos incluye estudio de relación entre las variables de calidad nutricional del forraje y tamaño de partículas expresado como proporción retenida en cada estrato (análisis de correlación). Se efectuaron análisis de varianza y comparación de medias por medio de Test de Tukey. Previamente se estudiaron los supuestos, y en caso que no se cumpliera el supuesto de homogeneidad de varianzas, en el análisis de varianza se empleó un modelo mixto

con varianzas heterogéneas para el error. Se usaron los software estadísticos Infostat (Di Rienzo, 2011) y SAS (y se trabajo con un nivel de significación del 0,05.

RESULTADOS

Valoración nutricional de las dietas

En la tabla 1 se describen las propiedades de los forrajes a través de los valores DIG (%), FDA (%), FDN (%) y MSf (%) para cada una de las dietas.

Dieta	Forraje	Estado Fenológico	DIG (%)	FDA (%)	FDN (%)	MSf (%)
Pp	Pastura	Veg. Tardío	66,0	32,4	55,3	19,2
Ss	Soja	R5	81,5	26,1	44,5	28,4
Mm	Maíz	R2 – R4	63,6	32,2	59,6	16,6
Aa	Avena	Veg. Temprano	87,3	23,4	34,3	15,1

Tabla 1: Valores de composición y calidad de los forrajes para cada una de las dietas. Dónde: Pp= pastura, Ss= soja, Mm= maíz, Aa= Avena, DIG= digestibilidad In vitro, FDN= fibra en detergente neutro, FDA= fibra en detergente ácido, MSf= materia seca del forraje.

En líneas generales y como era de esperar, a menor porcentaje de fibra (expresada como FDN y FDA) mayor la digestibilidad de los forrajes (NRC, 2007; INRA, 2015). El valor más elevado de DIG se registró para la Avena (87.3%) coincidiendo con un estado fenológico vegetativo muy temprano al momento de corte (Cangiano, 1997). En forma decreciente siguen la Soja, Maíz y registrándose el valor más bajo en la Pastura (66.0%). Todos los valores de DIG son mayores a los rangos medios encontrados en las tablas nutricionales de referencia (NRC, 2007; INRA, 2015). La concentración de materia seca (%MSf), fue mayor para la Soja valor (28,4%) seguido, en forma decreciente por la Pastura, Maíz y Avena.

Composición de las heces – tamaño de Partículas

En forma descriptiva, vemos en el grafico 1 los promedios de las proporciones retenidas del material de heces frescas de cada estrato para cada tipo de dieta, evidenciando a priori diferencias detectables. Partículas de tamaño mayor a 4,8 mm (A) y menor a 1,6 mm (D) son más relevantes en tal distinción. Los estratos B y C fueron siempre minoritarios para los forrajes evaluados.

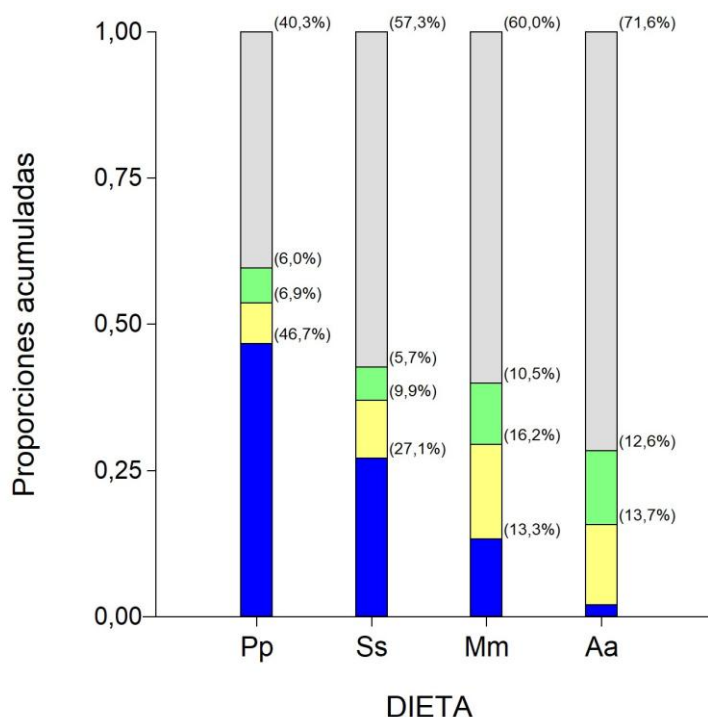


Gráfico 1: Proporciones acumuladas de los estratos A (azul), B (amarillo), C (verde) y D (gris) para todas las dietas. Dónde: Pp= pastura, Ss= soja, Mm= maíz, Aa= avena.

A fin de ampliar la información, siendo la primera vez en nuestro medio que se utiliza este instrumento para separar partículas en heces frescas de equinos, realizamos los coeficientes de correlación de Pearson entre las variables A, B, C y D (Tabla 2) y también expresamos su relación en forma matricial (Gráfico 2).

Correlación de Pearson				
Variable(1)	Variable(2)	n	Pearson	p-valor
A	B	31	-0,520	0,0025
A	C	31	-0,660	<0,0001
A	D	31	-0,870	<0,0001
B	A	31	-0,520	0,0025
B	C	31	0,520	0,0025
B	D	31	0,070	0,6894
C	A	31	-0,660	<0,0001
C	B	31	0,520	0,0025
C	D	31	0,340	0,058
D	A	31	-0,870	<0,0001
D	B	31	0,070	0,6894
D	C	31	0,340	0,058

Tabla 2: Coeficientes de correlación de Pearson para las variables de composición física. Dónde: A= partículas de heces frescas con tamaño mayor a 4,8 mm, B= partículas de heces frescas con tamaño entre 4,8 – 3,2 mm, C= partículas de heces frescas con tamaño entre 3,2 – 1,6 mm, D= partículas de heces frescas con tamaño menor a 1,6 mm.

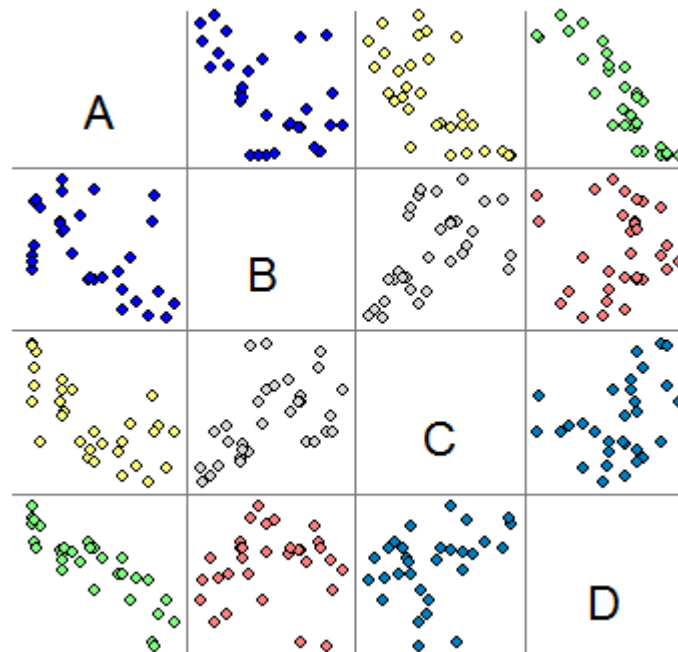


Gráfico 2: Matriz de relación entre los diferentes tamaños de partículas en heces frescas para todas las dietas.

Puede observarse, tanto en el la tabla a través de su valor ($r = -0,870$) como así también por el gráfico, que la relación más estrecha está entre los estratos A y D,

representando que el incremento de la proporción de una implica la reducción en forma considerada de la otra.

Composición de las heces – materia seca

En la tabla 3 se muestran las medidas resumen de materia seca de las heces por tipo de dieta. Para la variable en cuestión no se registraron diferencias entre las medias de las distintas dietas (valor $p=0,3568$).

DIETA	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	CV	Mín	Máx
Aa	MSh	7	0,17	0,03	0,01	16,96	0,14	0,22
Mm	MSh	7	0,17	0,03	0,01	14,84	0,14	0,22
Pp	MSh	9	0,20	0,04	0,01	19,35	0,14	0,25
Ss	MSh	8	0,18	0,02	0,01	9,92	0,15	0,20

Tabla3: Valores promedio (media), desvío estándar (D. E), error estándar (E. E), coeficiente de variación (C. V), mínimo (mín) y máximo (máx) para la variable materia seca de las heces, por dieta. Dónde: MSh= materia seca de las heces, Pp= pastura, Ss= soja, Mm= maíz, Aa= Avena.

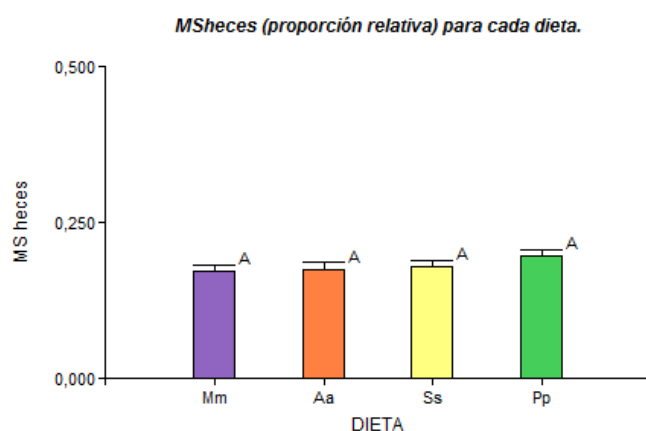


Gráfico 3: Prueba de Tukey para la proporción promedio de la materia de las heces para todas las dietas. Letras diferentes representan diferencias significativas entre medias. Dónde: Pp= pastura, Ss= soja, Mm= maíz, Aa= Avena.

Relación entre tamaño de partículas las heces frescas y tipo de dieta

Las medidas resumen para las variables A, B, C y D para todas las dietas, se muestran en la tabla 4. Observamos que dentro de cada grupo y dependiendo del tamiz evaluado los coeficientes de variación son muy variables. De todas maneras, es importante remarcar que para el tamiz o estrato con mayor proporción de material

retenido los %CV son menores: siendo para Dieta Aa - estrato D (0,72) %CV:7,81; Dieta Mn – estrato D (0,60) %CV:5,24; Dieta Pp – estrato A (0,47) %CV:14,15 y Dieta Ss – estrato D (0,57) %CV:11,55.

DIETA	Estrato	n	Media	D.E.	E.E.	CV%	Mín	Máx
Aa	A	7	0,02	0,01	0,00	56,40	0,01	0,04
Aa	B	7	0,14	0,05	0,02	33,75	0,08	0,19
Aa	C	7	0,13	0,04	0,01	27,90	0,06	0,16
Aa	D	7	0,72	0,06	0,02	7,81	0,63	0,80
Mm	A	7	0,13	0,02	0,01	12,62	0,12	0,17
Mm	B	7	0,16	0,04	0,01	23,86	0,11	0,22
Mm	C	7	0,10	0,01	0,00	11,80	0,09	0,12
Mm	D	7	0,60	0,03	0,01	5,24	0,54	0,63
Pp	A	9	0,47	0,07	0,02	14,15	0,36	0,56
Pp	B	9	0,07	0,07	0,02	98,86	0,01	0,20
Pp	C	9	0,06	0,03	0,01	47,37	0,02	0,11
Pp	D	9	0,40	0,12	0,04	29,03	0,24	0,59
Ss	A	8	0,27	0,06	0,02	21,31	0,20	0,37
Ss	B	8	0,10	0,06	0,02	56,70	0,05	0,21
Ss	C	8	0,06	0,01	0,00	16,03	0,04	0,07
Ss	D	8	0,57	0,07	0,02	11,55	0,47	0,66

Tabla 4: Valores promedio (media), desvío estándar (D. E), error estándar (E. E), coeficiente de variación (C. V), mínimo (mín) y máximo (máx) para el material retenido en cada estrato. Dónde: Pp= pastura, Ss= soja, Mm= maíz, Aa= Avena, A= partículas de heces fresca con tamaño mayor a 4,8 mm, B= partículas de heces frescas con tamaño entre 4,8 – 3,2 mm, C= partículas de heces frescas con tamaño entre 3,2 – 1,6 mm, D= partículas de heces frescas con tamaño menor a 1,6 mm.

Dado que para las variables B y D se halló homogeneidad de varianzas (PValue <0,05), se puede observar que sí existen diferencias significativas entre las medias para las dos variables. Las mismas fueron analizadas mediante la prueba de comparación de medias Test de Tukey, con un nivel de confianza del 95% para la variable B (PValue >0,05) y un nivel de confianza del 99% para la variable D (PValue <0,01). Se encontró que las medias correspondientes a las dietas para tamaño de partículas entre 3,2 – 4,8 mm se dividen en dos grupos, sin observarse diferencias intragrupo: Pp, Ss y Aa y Ss, Aa y Mm; pero sí hallándose diferencias entre las dietas Pp y Mm (grafico 4). Para tamaño de partículas 1,6 – 3,2 mm, las medias de las dietas Ss y Mm no difieren entre sí pero si con las medias correspondientes a Pp y Aa.

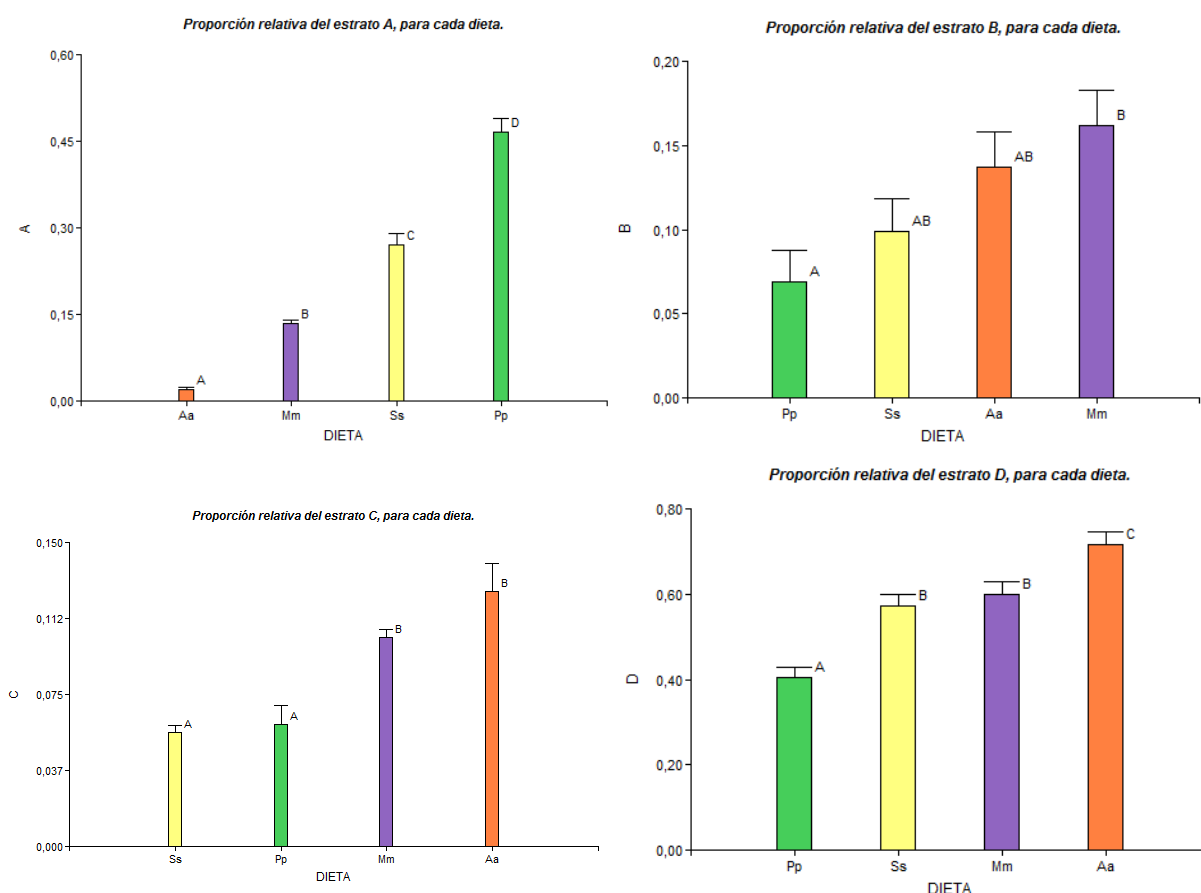


Gráfico 4: Proporción promedio de los estratos A, B, C y D relativa al total para todas las dietas. Letras diferentes representan diferencias significativas entre medias. Dónde: Pp= pastura, Ss= soja, Mm= maíz, Aa= avena.

Por otra parte, dado el incumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianza para las variables A y C, se llevó a cabo el análisis estadístico con un modelo mixto que contempló la heterogeneidad de las varianzas por medio del software estadístico SAS (2018). Para ambas variables se encontraron diferencias significativas entre medias correspondientes a cada una de las dietas ($P < 0,05$). Para tamaño de partículas mayor a 4,8 mm se hallaron diferencias significativas entre las medias correspondientes a las cuatro dietas (Gráfico 4).

Finalmente, para la variable C, se encontró la existencia de dos grupos con evidencia de diferencias: las medias correspondientes a las dietas Ss y Pp no difieren entre sí como tampoco lo hacen Mm y Aa (Gráfico 4), a pesar que el análisis de valoración nutricional no presenta similitudes entre las dietas (Tabla 1). Por lo tanto, el

rango de partículas entre 1,6 – 3,2 mm no es posible diferenciar entre tipo y calidad de dieta consumida.

Relación entre tamaño de partículas en heces frescas y calidad de la dieta

La tabla 6 muestra los coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros de valoración de calidad nutricional de los forrajes y el tamaño de partículas en las heces frescas representado por la proporción retenida durante el lavado en cada estrato. Para la variable MSf no se evidencian relaciones significativas, excepto con la variable correspondiente a partículas de tamaño entre 3,2–1,6 mm (C). En este caso en particular, se registró una correlación moderada y negativa ($r = -0,61$) manifestando que el incremento en una de las variables implica la reducción de la otra. Para el resto de las variables (DIG, FDN y FDA) se hallaron correlaciones moderadas y de significancia aparente con las variables tamaño de partículas mayor a 4,8 mm y menor a 1,6 mm. Sin embargo se observan dos patrones de comportamiento. Por un lado, se manifiesta una correlación inversa para el par DIG-A ($r = -0,51$) y directa para DIG-D ($r = 0,57$); por otro lado, FDA y FDN exponen el comportamiento opuesto. Los pares FDN-A y FDA-A expresan correlación positiva ($r = 0,51$ y $r = 0,59$, respectivamente) mientras que los pares FDN-D y FDA-D se correlacionan en forma inversa ($r = -0,53$ y $r = -0,63$, respectivamente).

Correlación de Pearson

MSf	A	31	0,38	0,0362
MSf	B	31	-0,27	0,1486
MSf	C	31	-0,61	0,0003
MSf	D	31	-0,20	0,2799
DIG	A	31	-0,51	0,0037
DIG	B	31	0,05	0,7776
DIG	C	31	0,22	0,2285
DIG	D	31	0,57	0,0008
FDN	A	31	0,51	0,0034
FDN	B	31	-0,05	0,8053
FDN	C	31	-0,29	0,1115
FDN	D	31	-0,56	0,0011
FDA	A	31	0,59	0,0005
FDA	B	31	-0,11	0,5503
FDA	C	31	-0,29	0,1157
FDA	D	31	-0,63	0,0001

Tabla 6. Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables de composición del forraje y tamaño de partículas de las heces. Dónde: MSf= materia seca del forraje, A = partículas de heces frescas con tamaño mayor 4,8 mm, B= partículas de heces frescas con tamaño entre 4,8 – 3,2 mm; C= partículas de heces frescas con tamaño entre 3,2 – 1,6 mm, D= partículas de heces frescas con tamaño menor a 1,6 mm, DIG= digestibilidad In vitro, FDN= fibra en detergente neutro, FDA= fibra en detergente ácido.

DISCUSIÓN

Tamaño de partículas en heces de equinos

El presente trabajo pudo discriminar el tamaño de partículas en heces frescas de equinos, utilizando el instrumento comercial (Nasco Digestion Analyzer), como método práctico y económico cuando pastorean distintos tipos de forrajes. En un estudio anterior con el mismo aparato (Hutjens, 2010) lavaron las heces de vacas lecheras con agua tibia y un tiempo de 30 segundos. En nuestro caso, no dispusimos de un sistema para calentar el agua y tuvimos que incrementar el tiempo de lavado con agua fría a 4 minutos. Más que la temperatura del agua, consideramos que el factor primordial que explica el tiempo extra necesario para lavar las heces frescas es la diferencia entre las heces de los bovinos y equinos. Las partículas fecales de los rumiantes son más pequeñas que la de los equinos (Uden and Van Soest, 1982), en promedio 0,2 mm en ovinos y 0,4 mm en bovinos (Grenet et al., 1984). Estos investigadores también determinaron un tamaño medio de partículas fecales en equinos de $1,8 \pm 0,8$ mm; usaron mayor cantidad de forrajes y mallas de apertura de 8 mm, 6,3 mm, 4 mm, 2,5 mm, 1,25 mm, 0,8 mm, 0,4 mm y 0,16 mm. En nuestro estudio no se realizó la valoración del tamaño medio de partículas en heces.

Se presume que el tamaño de partículas en las heces es representativo del tamaño de partículas de la digesta después del proceso masticatorio. Los equinos dedican muchas horas del día a pastorear y tienen un proceso masticatorio muy intenso, entre 3000 a 3500 movimientos para comer un kg de heno (INRA, 2015). También ocurre una separación entre dos fases de la digesta en el tracto posterior del equino debido a retención selectiva de grandes partículas. El movimiento coordinado de los músculos circulares y longitudinales sobre la porción de TGI colon ventral izquierdo-flexura pélvica-colon dorsal izquierdo causan una separación física de partículas menos digeridas y mas groseras - más de 1 cm aproximadamente (Van

Weyenberg et al., 2006). Este proceso de retención diferencial, aumenta el tiempo de fermentación de la porción fibrosa de los forrajes.

De acuerdo a nuestros resultados, la proporción de material fecal retenido en los tamices varía con el tipo de forraje consumido. La tasa de reducción de las partículas, la densidad de la digesta y características del flujo son factores importantes que pueden afectar las tasa de pasaje y así el nivel de consumo y la digestibilidad (Uden and Van Soest, 1982). En nuestro estudio, hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las dietas para tamaño de partículas mayor a 4,8 mm (A). Y si bien hubo estrecha relación entre estratos A y D (coeficiente de correlación Pearson r : -0,870) no hubo diferencias significativas para partículas menores a 1,6 mm (D). En el análisis de varianza de esta variable para tipo de dieta, no se encontraron diferencias entre las dietas de soja (Ss) y maíz (Mn). Esto podría deberse a efectos indirectos sobre la digestión por el posible aporte de grano que tenía la planta de maíz (estado fenológico R2-R4) interactuando su almidón con la fibra durante el proceso de fermentación en el tracto posterior.

Si bien en nuestro trabajo no se estudió como variable de análisis las características dentarias de las yeguas, varios grupos de investigadores han estudiado sus efectos sobre la digestión en equinos. Trabajos de corrección dentaria (Zwirgmaier et al., 2011), evaluación de movimientos rostro-caudal de la mandíbula (Carmalt and Allen, 2006) como medición del ángulo oclusal de los molares (Carmalt et al., 2005). Siendo los resultados contradictorios, aparentemente el grado de anormalidad dentaria fue distinto entre los estudios y por lo tanto no puede asumirse con precisión la influencia de las características dentarias o proceso masticatorio sobre el tamaño de partículas encontrado en las heces.

Relación de las heces con la calidad de la dieta

Así como también lo expresa Bastianelli et al. (2015), nuestro trabajo se sustenta en que las heces son el producto final del proceso digestivo y por lo tanto contienen información del alimento consumido y del paso de la digesta por el tracto gastrointestinal. Estudios previos han podido relacionar la composición química en heces con la valoración nutricional del alimento consumido. Tolleson and Schafer (2014) indican que la tecnología de análisis NIRS en heces puede ser usado para monitorear la calidad de la dieta. Así pueden monitorear el estado nutricional de rodeos de vacunos en importantes regiones áridas o semiáridas. En parte, coinciden con Kidane et al. (2008) quienes realizan análisis de heces de burros por NIRS. En su investigación, han notado que el contenido de proteína cruda de la dieta fue predicho

con niveles aceptables de exactitud, mientras que para digestibilidad fue menos acertada. Un trabajo realizado con heces de equinos para predecir la calidad de las dietas (Mesochina et al., 1998) sugiere que los índices fecales pueden ser muy útiles en la predicción de la digestibilidad, obteniendo la mayor precisión por regresión múltiple con valores de proteína y fibra en las heces.

En nuestra investigación, se demuestran las relaciones medidas a través del análisis de correlación de Pearson entre las variables de calidad del forraje (DIG, FDN y FDA) y el tamaño de partículas de las heces frescas (Estratos A, B, C y D). Las relaciones más significantes ($p < 0,05$) fueron siempre con los tamaños de partículas mayor a 4,8 mm (A) y menor a 1,6 mm (D). Siendo el patrón de comportamiento, cuanto mayor la digestibilidad de la dieta menos material queda en el estrato A y más en D; y contraria pero lógicamente, cuanto más fibra expresado tanto en FDN como en FDA tienen los forrajes más cantidad de material queda retenido en el estrato A y menos en D. Nuestros resultados son coincidente con el trabajo de Grenet et al. (1984) donde los coeficientes de correlación muestran que los % de partículas fecales mayor a 0,16 mm incrementan cuando la digestibilidad de la materia orgánica y la fibra cruda de los forrajes disminuyen. Para la variable materia seca de las heces, nosotros no encontramos ningún tipo de diferencia significativa entre las dietas ni tampoco ningún nivel de relación importante con la calidad de los forrajes. Hutjens (2010) si tuvo tendencia estadísticamente significativa entre el contenido de FDN del alimento y la materia seca en las heces de vacas lecheras. Posiblemente, en nuestro caso hubiese sido necesario evaluar mayor cantidad de pares Heces/Forrajes para generar más oportunidades en tales relaciones. Por otro lado y a fin de evitar una alteración en el patrón de consumo, las yeguas muestreadas estuvieron permanentemente en la parcela, evitando así cambios bruscos en la tasa de ingesta que lleve a implicaciones para la salud del sistema gastrointestinal y afectar parámetros en la digestibilidad o de las heces (Glunk et al., 2012).

Evaluar los parámetros físicos de las heces a fin de relacionarlo con la calidad de los distintos forrajes disponibles para su consumo sigue siendo de especial interés para la valoración nutricional de programas de alimentación en equinos. Kohnke (1992) ha descrito un sistema de evaluación de las heces frescas para monitoreo el proceso de digestión en equinos tomando en cuenta la consistencia, el olor y color. Aunque parece práctico carece de objetividad en su análisis. En nuestro caso, a través del separador de partículas, pudimos inicialmente diferenciar por tipo de forraje consumido, a través de las proporciones del material encontrado en las heces frescas (indigestible). El valor nutritivo de las pasturas dependerá del contenido de nutrientes

que aporten (Pellegrini y Paz, 2016), de la disponibilidad de los mismos para el animal, de la eficiencia con que se absorben y son utilizados y también de los posibles efectos sobre el consumo (Hoskin and Gee, 2004). La digestibilidad de los diferentes nutrientes puede ser afectada por varios factores, los cuales pueden ser propios del animal, del alimento o también del ambiente (Topayan et al., 2017).

CONCLUSIÓN

Este trabajo muestra por primera vez en nuestro medio, la interacción entre el tipo de forraje de la dieta y el tamaño de partículas en las heces equinas. En primera instancia, los forrajes se reducen a partículas muy pequeñas dentro del proceso digestivo de los equinos, y esta disminución depende del tipo y calidad de los forrajes consumidos.

El uso del instrumento Nasco Digestion Analyzer para caracterizar las heces frescas de los equinos a través de la medición de la proporción de partículas de diferente tamaño, podría ser un método práctico, sencillo y económico para interpretar la calidad nutricional del forraje pastoreado. Seguramente, esto será de mayor utilidad en los sistemas extensivos de producción equina.

De todos modos, consideramos que harían falta un mayor número de evaluaciones de la interacción forraje/heces con este método para poder definir un modelo descriptivo y posteriormente predictivo al respecto.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer muy especialmente a la Ing. Zoot. Maria Victoria Topayan, ayudante de la Cátedra de Equinotecnia (FCA, UNLZ) por su importante colaboración en el presente trabajo. También a la Ing. Maria Silvia Borlandelli a cargo del Laboratorio de análisis nutricional de los forrajes NIRS (FCA, UNLZ) y a la Lic. Nora Abbiati (MSc) a cargo de la Cátedra de Biometría (FCA, UNLZ).

BIBLIOGRAFÍA

- Bastianelli D, Bonnal L, Jaguelin-Peyraud Y and Noblet J. 2015. Predicting feed digestibility from NIRS analysis of pig faeces. *Animal* 9(5): 781–786.
- Brambillasca S, Purtscher F, Britos A, Repetto JL, Cajarville C. 2010. Digestibility, fecal characteristics, and plasma glucose and urea in dogs fed a commercial dog food once or three times daily. *Can Vet J* 51: 190–194.
- Cangiano CA. 1997. *Producción Animal en Pastoreo*. INTA. Ed. La Barrosa. Argentina.
- Carmalt JL and Allen AL. 2006. Effect of rostrocaudal mobility of the mandible on feed digestibility and fecal particle size in horses. *J Am Vet Med Assoc* 229: 1275–1278.
- Carmalt JL, Cymbaluk NF, Townsend HGG. 2005. Effect of premolar and molar occlusal angle on feed digestibility, water balance, and fecal particle size in horses. *J Am Vet Med Assoc* 227:110–113.
- Cymbaluk NF. 1990. Comparison of forage digestion by cattle and horses. *J Anim Sci* 70: 601-610.
- Darlington JM and Hershberger TV. 1968. Effect of Forage Maturity on Digestibility, Intake and Nutritive Value of Alfalfa, Timothy and Orchardgrass by Equine. *J Anim Sci* 27: 1572-1576.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M y Robledo CW. 2011. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Gil-Jiménez E, Villamuelas M, Serrano E, Delibes M, Fernández N. 2015. Fecal Nitrogen Concentration as a Nutritional Quality Indicator for European Rabbit Ecological Studies. *PLoS ONE* 10 (4): e0125190.
- Glunk EC, Pratt-Phillips SE, Siciliano PD. 2012. Effect of Restricted Pasture Access on Pasture Dry Matter Intake Rate, and Fecal pH in Horses. *Journal of Equine Veterinary Science* xxx 1-6.
- Goering HK and Van Soest PJ. 1970. FORAGE FIBER ANALYSES, Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications. Agriculture Handbook No. 379. Agricultural Research Service. Washington, D.C. 24p.
- Grenet E, Martin-Rosset W and Chenost M. 1984. COMPARED SIZE AND STRUCTURE OF PLANT PARTICLES IN THE HORSE AND THE SHEEP FECES. *Can J Anim Sci* 64:345-346.
- Henneke DR, Potter GD, Kreider JL and Yeates BF. 1983. Relationship Between Condition Score, Physical Measurements and Body Fat Percentage in Mares. *Equine Veterinary Journal*. 15 (4), 371 – 372.
- Hoskin SO and Gee EK. 2004. Feeding value of pastures for horses. *New Zealand Veterinary Journal* 52 (6): 332-341.
- Hutjens MF. 2010. Manureology 101. Four State Dairy Nutr.and Mgmt. Conf. Proc. pp. 59-61.

- INRA. 2015. Equine nutrition, INRA nutrient requirements, recommended allowances and feed tables. Ed. Wageningen Academic Publishers. The Netherlands. Pages: 696.
- Kidane NF, Stuth JW and Tolleson DR. 2008. Predicting Diet Quality of Donkeys via Fecal-NIRS Calibrations. *Rangeland Ecology & Management* Vol. 61 (2): 232-239.
- Kohnke J. 1992. Feeding and Nutrition. Ed. Birubi Pacific, Australia. 197 p.
- Martin-Rosset W. 1993. Alimentación de los Caballos. INRA. Traducido al español. Ed. Hemisferio Sur. Argentina.
- Mésochina, P, Martin-Rosset W, Peyraud JL, Duncan D, Micol D, Boulot S. 1998. Prediction of the digestibility of the diet of horses: evaluation of faecal indices. *Grass and Forage Science* 53: 189-196.
- NRC. 2007. Nutrient Requirement of Horses. 6th Edition. Washington, D.C. U.S.
- Pagan JD. 1998. General Nutrition. *Advances in Equine Nutrition*. Ed. Nottingham University Press. UK. pp 1-111.
- Paz S y Pellegrini AG. 2008. "Construyendo el Sistema de Producción con Énfasis en la Nutrición Equina". Asociación Criadores de Caballos Criollos. Anuario. Vol.: 97; Pág. 174-7.
- Pellegrini AG y Paz S. 2016. El valor nutritivo del forraje para el equino. *La Especie Equina*; Año 15, Nº 55, Pág. 44-48.
- Sales J, Homolka P, Koukolová V. 2013. Prediction of Energy Digestibility of Hays in Horses. *Journal of Equine Veterinary Science* xxx 1-7.
- SAS. 2018. Institute Inc. SAS ® 9.4. Cary, NC: SAS Institute Inc., USA.
- Tolleson DR and Schafer DW. 2014. Application of fecal near-infrared spectroscopy and nutritional balance software to monitor diet quality and body condition in beef cows grazing Arizona rangeland. *J Anim Sci* 92: 349-358.
- Topayan MV, Pellegrini AG y Paz S. 2017. Pruebas de Digestibilidad en Equinos. *La Especie Equina*; Año 16, Nº 58, Pág. 36-40.
- Uden P and Van Soest PJ. 1982. THE DETERMINATION OF DIGESTA PARTICLE SIZE IN SOME HERBIVORES. *Animal Feed Science and Technology* 7: 35-44.
- Van Soest PJ and Robertson JB. 1980. Systems of analysis for evaluating fibrous feeds. In: *Standardization of Analytical Methodology in Feeds* (Pigden, W. J., Balch, C. C. & Graham, M. eds.), pp. 49-60. International Research Development Center, Ottawa, Canada.
- Van Weyenberg S, Sales J and Janssens GPJ. 2006. Passage rate of digesta through the equine gastrointestinal tract: A review. *Livestock Science* 99, 3-12.
- Zwirgmaier S, Remler HP, Senckenberg E, Fritz J, Stelzer P and E. Kienzle. 2011. Effect of dental correction on voluntary hay intake, apparent digestibility of feed and faecal particle size in horse. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 1-8.

ANEXOS

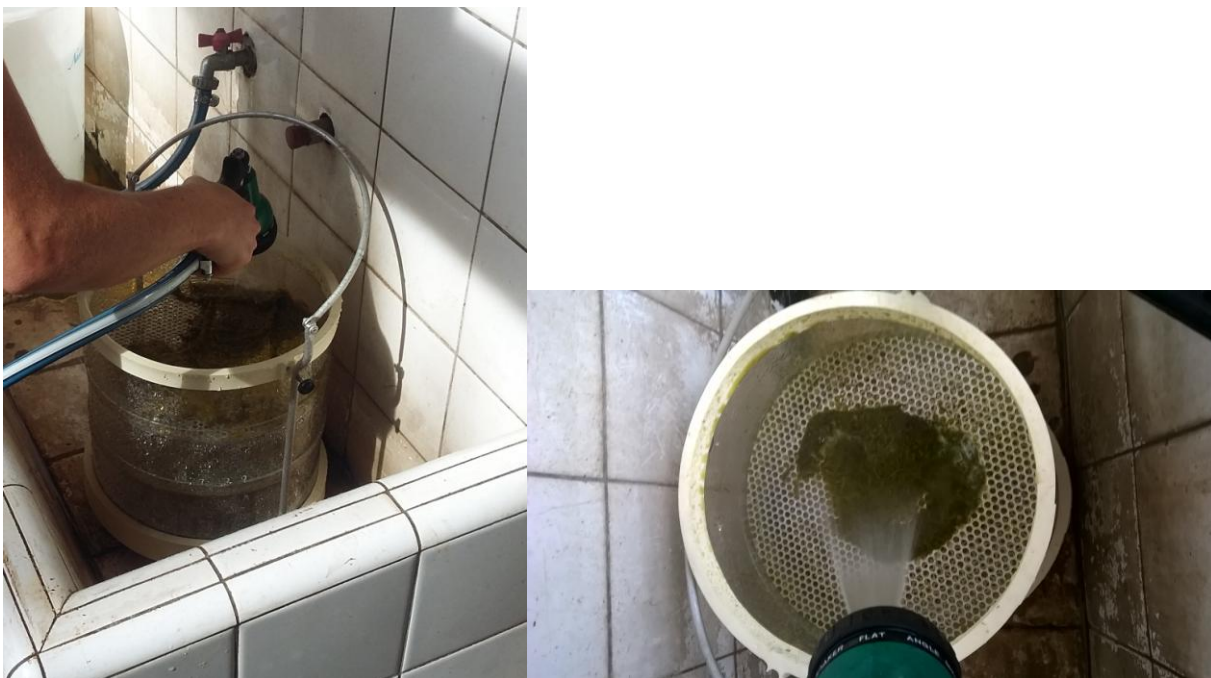


Imagen 1. Proceso de lavado de las muestras de heces frescas, con lluvia de agua fría con aspersor durante 4 minutos.

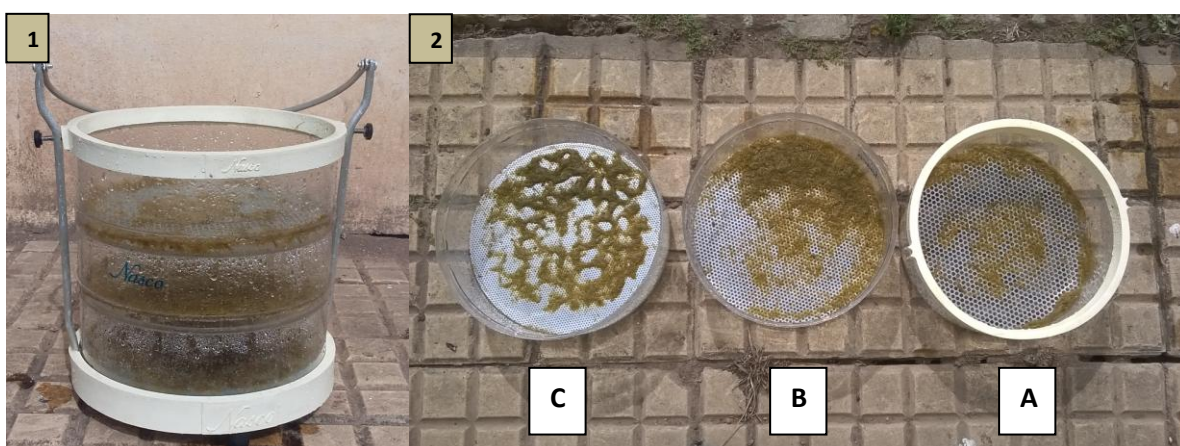


Imagen 2. 1. Estructura que sostiene las tres bandejas, cada una con un tamiz de distintos poros, y así queda retenido el material por tamaño post lavado. 2. Tamices de acero inoxidable que disminuyen el diámetro de poro desde el superior hacia el inferior (denominamos con letras cada estrato o tamiz): **A: > 4,8 mm; B: 4,8-3,2 mm y C: 3,2-1,6 mm.**

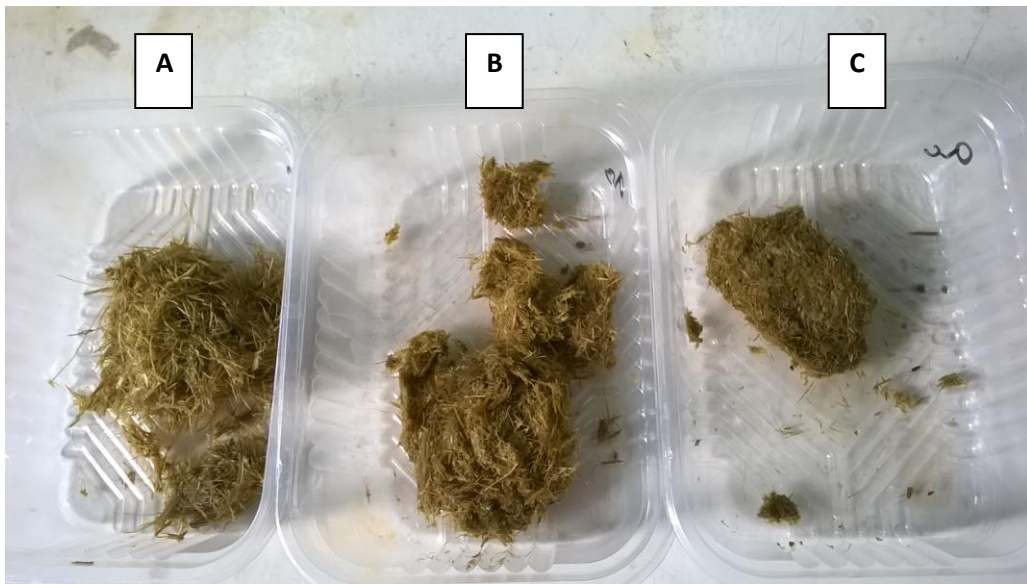


Imagen 3. Material separado en cada tamiz por su tamaño, escurrida el agua sobrenadante y preparadas en bandejas de plástico para pesarlo con balanza electrónica de precisión y finalmente determinar su proporción relativa al total.